

HORVÁTI KATA

***Mycobacterium tuberculosis* immundomináns fehérjéiből származtatható mesterséges peptidantigének, valamint antituberkulotikum konjugátumok szintézise és *in vitro* aktivitásuk vizsgálata**

DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

Témavezető:

Dr. Bősze Szilvia tudományos főmunkatárs
MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport



ELTE TTK Kémia Doktori Iskola

Vezető: Dr. Inzelt György egyetemi tanár

Szintetikus kémia, anyagtudomány, biomolekuláris kémia program

Programvezető: Dr. Horváth István Tamás egyetemi tanár

Budapest, 2009

1. Bevezetés, célkitűzések

A Föld lakosságának egyharmada fertőzött *Mycobacterium tuberculosis* baktériummal, amely az egyik legelterjedtebb fertőző betegséget, a tuberkulózist (tbc) okozza. Legyengült immunrendszerű betegek esetében (pl. HIV fertőzöttek) a kórokozó könnyebben megfertőzheti a szervezetet és a fertőzés után sokkal gyorsabban kialakul a betegség. A BCG (Bacillus Calmette-Guérin) oltás nem nyújt egész életen át tartó védettséget a betegséggel szemben. A tuberkulózis kemoterápiája során a hatóanyagokkal szemben igen gyorsan kialakul a rezisztencia és a rezisztens baktériumok által okozott megbetegedés kezelése jóval hosszabb ideig tart és költségesebb. Az Egészségügyi Világszervezet (World Health Organization, WHO) jelentése szerint a tuberkulózis okozta halálesetek száma évente közel 2 millió [1].

A *M. tuberculosis* egy igen sikeres patogén, mely komplex sejtfala révén extrém körülmények között is létképes. A lassan szaporodó baktérium sok antibiotikumnak ellenáll és gyakran kivédi a gazdaszervezet saját eliminációs mechanizmusait. A fertőzött makrofágokban a *M. tuberculosis* ún. dormans állapotban hosszú ideig létképes.

A tuberkulózis megfelelő kontroll alatt tartásában fontos a fertőzések diagnózisa. A *M. tuberculosis* fertőzés kimutatása történhet egy adott típusú immunválasz mértékének meghatározásán alapuló módszerek segítségével. A legrégebbi, PPD keveréket (PPD, purified protein derivative) alkalmazó teszt, a tuberkulin bőrpróba nem alkalmas arra, hogy különbséget mutasson ki a kórokozóval való fertőzöttség és a BCG oltás következtében kialakuló szenzitizáltság között. Legyengült immunrendszerű páciensek esetében a PPD bőrpróba gyakran hamis negatív választ ad. A *M. tuberculosis* fertőzés jelentős celluláris immunválaszt indukál, mely a vizsgálandó páciens alvadásgátolt perifériás véréből elvégezhető IFN- γ meghatározásán alapuló tesztek segítségével mérhető. A tesztek érzékenysége és specifitása a stimuláláshoz használt antigéntől függ. Antigéntől immundomináns fehérjék, T-sejt epitóp peptidek és azok konjugátumai alkalmazhatóak.

Doktori munkám során olyan peptidek és peptidkonjugátumok előállítását terveztem, melyek optimális T-sejt választ indukálnak és ezért jól alkalmazhatóak IFN- γ mennyiségének meghatározásán alapuló tesztekben.

A dormans állapotban, alacsony oxigenizáció mellett a legnagyobb mennyiségben expresszált 16kDa fehérje fontos szerepet játszik a baktérium túlélésében. Kutatócsoportunkban az antigénszerkezet szisztematikus feltérképezésével meghatározták a

16kDa fehérje funkcionális T-sejt epitópját (91-104) [2]. Célom a 91-104 peptid származékainak előállítása és *in vitro* funkcionális vizsgálata volt.

Epitóp peptidek antigenitása növelhető hordozó molekulákhoz való konjugálással. Terveztem a 16kDa fehérje T-sejt epitóp származékának oligotuftsín és polimer típusú hordozó molekulákhoz való kapcsolását és a konjugátumok *in vitro* aktivitásának meghatározását különböző donorcsoportokon.

M. tuberculosis komplexre két specifikus antigén, az Rv2654 és Rv1733c fehérjék jelentős immunválaszt indukálnak. Célul tűztem ki a fehérjék T-sejt epitópszerkezetének felderítését átlapoló szintetikus peptidek alkalmazásával és a peptidek *in vitro* funkcionális vizsgálatát PPD pozitív egészséges és aktív tbc-s betegek véréből izolált PBMC sejteken.

Doktori munkám célja továbbá a konjugálási reakcióhoz előállított peptidek cisztein tartalmának kvantitatív meghatározására alkalmas analitikai módszer kidolgozása. A cisztein oxidációra érzékeny aminosav. Az oxidáció végbemehet a szintézis és az analitikai elemzés során is, ezért a cisztein tartalmú peptidek tisztaságának elemzése során számos nehézséggel kell szembenéznünk.

A tuberkulózis kezelése minimum hat hónapot vesz igénybe és az alkalmazott antituberkulotikumoknak számos mellékhatása ismert. A hatóanyagok többsége csak kismértékben hat az intracelluláris (dormans) baktériumok ellen. A fertőzött makrofágokba történő bejutás túlnyomóan diffúzió révén történik, meglehetősen korlátozott mértékben. A fertőzött makrofágok hatóanyagfelvételének optimalizálásával kisebb napi dózisok alkalmazása és rövidebb terápia lehetne elérhető, amely nagymértékben lecsökkentené a mellékhatásokat és a kezelés költségét. Az antituberkulotikumok hatóanyagfelvétele irodalmi adatok alapján növelhető célbajuttató rendszerek segítségével [3, 4]. Doktori munkám során terápiásan alkalmazott izoniazid (INH), *p*-aminosalicilsav (PAS) és pirazinamid (PZA) hatóanyagok biológiailag aktív és molekulárisan jól jellemezhető peptidalapú konjugátumainak előállítását terveztem.

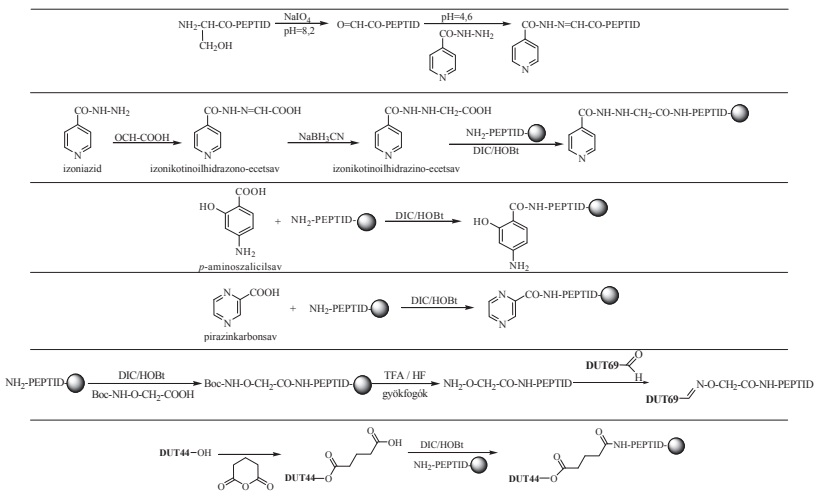
A rezisztens baktériumtörzsek terjedése miatt egyre nagyobb szükség van új típusú antibiotikumokra. Új hatóanyagok keresése történhet ún. *in silico* módszerek segítségével. Az ELTE Számítógéptudományi Tanszékén, Dr. Grolmusz Vince kutatócsoportjában kifejlesztett dokkoló algoritmus segítségével a baktérium anyagszeréjében létfontosságú enzimekhez kötődő molekulákat azonosítottak. Terveztem a vegyületek antituberkulotikus hatásának vizsgálatát *M. tuberculosis* és *M. kansasii* tenyészeteken, valamint az *in vitro* antituberkulotikus hatást mutató vegyületek citotoxicitásának és citosztatikus hatásának vizsgálatát különböző sejtvonalakon. Terveztem továbbá konjugálásra alkalmas származékok előállítását és a vegyületek kapcsolását oligopeptid típusú hordozóhoz.

2. Alkalmazott módszerek

2.1. Szintetikus módszerek, analitikai eljárások

A T-sejt építő peptideket és a hordozómolekulákat szilárd fázison Fmoc/tBu és Boc/Bzl stratégia alkalmazásával, manuálisan vagy automata peptidszintetizátoron állítottam elő. A 91-106 T-sejt építő peptidet tartalmazó konjugátumokat ciszteinnel hosszabbított analóg segítségével szintetizáltam. A cisztein tartalmú peptiddel a konjugálás előtt dimerizációs próbát végeztem, hogy a reakció körülményeit meghatározhassam. A konjugálás tioéter-kötésen keresztül történt klóracetil csoportot tartalmazó oligo- és polipeptid típusú hordozó molekulákhoz. Hordozóként a kutatócsoportban kifejlesztett elágazó láncú polipeptideket (poli[Lys(Ser-DL-Ala_m)] (SAK), poli[Lys(Glu-DL-Ala_m)] (EAK), ahol $m \approx 3,5$ és $i \leq 1$) és OT20 tetrauftsin ([TKPKG]₄) származékot használtam.

Az izoniazid-konjugátumok előállítására két szintézis utat fejlesztettem ki. Az első módszerben peptid-aldehidet állítottam elő szerin *N*-terminálisú peptidből és ezt reagáltattam izoniaziddal oldat fázisban. A másik szintézisben először az izoniazidból glioxilsavval származékot állítottam elő és a terméket szilárd fázison kapcsoltam a peptidekhez.



A *p*-aminoszalicilsav kapcsolása karboxil csoportján keresztül történt szilárd fázison Fmoc/tBu stratégia szerint felépített peptidek *N*-terminálisához. A pirazinkarbonsavat (PZC) szilárd fázison kapcsoltam peptidek *N*-terminálisához, illetve lizin ϵ -aminocsoportjaihoz amid-kötés kialakításával. A DUT69 vegyület kapcsolásához a hordozó peptidből aminoszámú származékot állítottam elő, majd oldatban végzett reakció segítségével oxim-kötést tartalmazó

konjugátumot szintetizáltam. A DUT44 molekula hidroxilcsoportját glutáraldehiddel észterestítettem, majd a származékot szilárd fázison kapcsoltam peptid *N*-terminálisához.

Az előzetesen feldolgozott peptideket és peptidszármazékokat félpreparatív eljárással nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia (HPLC) alkalmazásával tisztítottam. A munka során előállított szintetikus peptidek és konjugátumok kémiai jellemzését aminosavanalízis, ESI-MS tömegspektrometria és RP-HPLC módszerek alkalmazásával végeztem.

A szintetikus peptidek cisztein tartalmának meghatározása *N*-etilmaleimiddel történt. A cisztein szabad tiolcsoportja *N*-etilmaleimiddel reagáltatva a peptidben a stabil adduktot képez, amely reakció pillanatszerűen és kvantitatíven lejártszódik semleges vagy enyhén lúgos közegben. A keletkezett *S*-szukcinimid származék RP-HPLC kromatogramon minden esetben jól elválik a kiindulási anyagtól, ESI-MS analízissel azonosítható és a csúcs alatti terület alapján mennyiségileg meghatározható.

2.2. *In vitro* funkcionális vizsgálatok

Az építő peptidek és konjugátumok T-sejt választ indukáló *in vitro* hatását különböző donorok perifériás, alvadásgátolt vérből származó monomorfonukleáris sejteken (PBMC) vizsgáltam: (i) PPD negatív, egészséges (a látens fertőzés vagy a tuberkulózis kizárható); (ii) PPD pozitív, egészséges (tuberkulózis megbetegedés kizárható, látens fertőzés valószínűsíthető); (iii) aktív tbc-s beteg (radiológiai és bakteriológiai vizsgálatokkal igazolt).

A peptidekkel és konjugátumokkal stimulált sejtek által termelt IFN- γ mennyiségét enzimkötött immunszé (ELISA) és enzimkötött immunospot (ELISpot) módszerekkel határoztam meg. Az intracelluláris IFN- γ termelődését és a T-sejt proliferációt fluoreszcens jelölés után FACSCalibur áramlási citométerrel analizáltam. CD25 korai aktivációs marker jelölésével a T-sejt stimuláció kinetikáját tanulmányoztam.

Az antituberkulotikum-konjugátumok és az *in silico* azonosított hatóanyagok minimális inhibíciós koncentrációját (MIC) és telepszámát (CFU) *M. tuberculosis* és *M. kansasii* tenyészetben határoztuk meg. Kísérleteinket az Országos Korányi TBC és Pulmonológiai Intézet területén található Bakteriológiai Laboratóriumban (Corden International Magyarország Kft.) végeztük.

Az antituberkulotikus hatással rendelkező vegyületek citotoxicitását és citosztatikus hatását kolorimetriás tetrazólium (MTT) teszt alkalmazásával vizsgáltam HepG2, MonoMac6 sejtvonalakon, valamint preparált humán PBMC és egér csontvelői makrofág sejteken.

A megfelelő fluoreszcens tulajdonsággal rendelkező DUT44 hatóanyag sejtfelvételét MonoMac6 monocita sejtvonalon BD LSR II áramlási citométerrel vizsgáltam.

3. Eredmények és következtetések

I. Doktori munkám során M. tuberculosis immundomináns fehérjeit reprezentáló peptidantigénekkel foglalkoztam, melyek immundiagnosztikai reagensként potenciálisan a fertőzőtség korai detektálását tehetik lehetővé.

1. A 16kDa fehérje funkcionális T-sejt epitópjának (91-104) 13 származékát állítottam elő. PPD negatív, egészséges donor vérből preparált PBMC sejtek a peptidek hatására nem termeltek a negatív kontrollnál nagyobb mennyiségű IFN- γ citokint. Aktív tbc-s beteg esetében jelentős T-sejt választ detektáltam. Az antituberkulotikus terápián átesett pácienseknél a T-sejt válasz csökkent, kisebb IFN- γ termelést mértem az epitóp peptidekkel történt kezelést követően [5].
2. A ⁹¹SEFAYGSFVRTVSLPV¹⁰⁶-C peptidet OT20 oligotuftsinnal származékhoz és SAK, EAK polimerekhez konjugáltam tioéter-kötéssel keresztül.
 - a. Az előállított SAK(91-106), EAK(91-106) és OT20(91-106) konjugátumok T-sejt választ indukáló hatását PPD pozitív, aktív tbc-s beteg vérből preparált PBMC sejteken vizsgáltam. A konjugátumokkal való kezelés hatására a mért IFN- γ mennyisége többszöröse volt a 91-106 peptid esetében mértnek. A szabad hordozó molekulák (SAK, EAK, OT20) nem stimulálták jelentős mértékben a T-sejteket (aszpecifikus stimuláció). A szubsztitúciófoknak megfelelő keverékek minden esetben kisebb IFN- γ termelést eredményeztek, mint a kovalens kötésű konjugátumok. A konjugáció tehát nagymértékben növelte a 91-106 epitóp peptid antigenitását és a nehezen vizsgálható, kezelésen átesett páciensek esetében is jól mérhető T-sejt választ detektáltunk a konjugátummal történő stimulálást követően.
 - b. A SAK(91-106), EAK(91-106) és OT20(91-106) konjugátumok és a szabad hordozók egyike sem indukált proliferációt PBMC sejteken.
3. Az Rv2654 (Tb7.7) fehérje egy specifikus antigén, mely hiányzik a BCG vakcinatörzslizátumból. A fehérje antigénszerkezetének felderítését átlapoló dodekamer peptidek segítségével végeztem.
 - a. A fehérjén belül három T-sejt epitóp régiót lokalizáltam ELISpot módszerrel PPD pozitív látens fertőzöttek és aktív tbc-s betegek PBMC sejtjein. Az Rv2654 fehérje C-terminális régiója (61-81) a tbc-s betegek 60%-ánál indukált specifikus immunválaszt. Irodalmi adatok alapján a rekombináns Rv2654 fehérje a tbc-s betegek 53%-ánál (10/19) stimulálta a PBMC sejteket. BCG oltott donorok esetében egyik peptidnél sem mértünk *in vitro* aktivitást.

- b. Az *N*-terminális, 31-50 és *C*-terminális régióin belül további 9 peptideket szintetizáltam. Megállapítottam, hogy a legnagyobb, az ESAT6/CFP10 fehérjekeverékkel közel azonos mértékű T-sejt választ, a VRAVAESHGVAAVLF (51-65) peptid váltja ki.
4. A dormans állapotú baktérium által expresszált Rv1733c fehérje építésszerkezetének felderítésére húsz dodekamer peptidet állítottam elő. A 29 látens fertőzött donor vérén végzett *in vitro* tesztek alapján lokalizált két régió (91-130 és 191-210) belül további 11 peptidet szintetizáltam. A legnagyobb mértékű T-sejt választ a 91-105, 111-125 és 193-210(Ser) peptidek váltották ki.

II. Peptidek cisztein tartalmának kvantitatív meghatározására alkalmas új analitikai módszert dolgoztam ki *N*-etilmaleimid reagens alkalmazásával [6].

Referenciaanyagok tesztelése után az eljárást számos olyan esetben alkalmaztam (pl. dimerizáció követése), ahol az *N*-etilmaleimiddel történő reakció megkönnyítette a cisztein tartalmú peptidek elemzését.

III. Doktori munkám során a klinikumban alkalmazott antituberkulotikumot tartalmazó peptidkonjugátumokat állítottam elő, melyek potenciálisan növelhetik a hatóanyagok sejtbefutásának mértékét.

1. Izoniazid (INH), *p*-aminosalicilsav (PAS) és pirazinamid (PZA) antituberkulotikumok peptidkonjugátumainak előállítására szintézisutakat dolgoztam ki elsősorban szilárd fázisú technikákat alkalmazva. Meghatároztam, hogy az adott antituberkulotikum kémiai módosítása a konjugáció során hogyan befolyásolja annak gátló aktivitását *M. tuberculosis* H₃₇Rv és *M. kansasii* tenyészetben. Megállapítottam, hogy az INH konjugátumok mindegyike a szabad izoniaziddal közel azonos hatást mutat (MIC=0,16-0,40 µg/ml; $1,17 \times 10^{-6}$ - $2,26 \times 10^{-6}$ M). A karboxil csoporton történő konjugálás hatására a PAS elveszti *in vitro* antituberkulotikus hatását [7, 8].
2. Meghatároztam az *in vitro* antibakteriális hatást mutató INH=CH-CO-⁹¹SEFAYGSFVRTVSLPV¹⁰⁶ (hidrazon) és INH-CH₂-CO-⁹¹SEFAYGSFVRTVSLPV¹⁰⁶ (hidrazid) konjugátumokból az izoniazid felszabadulásának időfüggését Sula folyékony táptalajban. Hat órán belül mindkét típusú konjugátum stabilitása > 90%.
2. Vizsgáltuk a GTKPK(INH-CH₂-CO)G konjugátum citosztatikus hatását HepG2 humán hepatoma sejtvonalon. A konjugátum a legmagasabb vizsgált koncentrációban (5×10^{-4} M) sem mutatott citosztatikus hatást.

IV. Az ELTE Számítógéptudományi Tanszékén, Dr. Grolmusz Vince kutatócsoportjában kifejlesztett dokkoló algoritmus segítségével azonosított, a baktérium anyagcseréjében létfontosságú enzimekhez kötődő molekulák *in vitro* aktivitásának meghatározását végeztem.

1. Az általam vizsgált 37 *in silico* azonosított vegyület közül 15 mutatott antituberkulotikus hatást *M. tuberculosis* H₃₇Rv törzsen [9]. A legalacsonyabb MIC értékkel a DUT69, DUT3, DUT13, DUT44 és a PriA42 vegyületek rendelkeztek (MIC=1-20µg/ml, $3,73 \times 10^{-6}$ - $4,59 \times 10^{-5}$ M)
2. A PriA42 molekula *M. kansasii* baktériumtörzsen is mutatott gátló aktivitást (33µg/ml, $8,87 \times 10^{-4}$ M).
3. A legkisebb MIC értékkel rendelkező ligandumok citotoxicitását és citosztatikus hatását vizsgáltam MonoMac6 monocita sejtvonalon, HepG2 humán hepatoma sejtvonalon, preparált humán PBMC sejteken és egér csontvelői makrofágokon. A DUT3 molekula IC₅₀ értéke mind a négy sejttypus esetében közel azonos volt és ez a koncentráció a vegyület MIC értékével ($1,22 \times 10^{-5}$ M) megegyező nagyságrendben van. A DUT44 vegyület minimális gátló koncentrációja *M. tuberculosis* baktériumtörzsen (MIC=20µg/ml, $4,59 \times 10^{-5}$ M) egy nagyságrenddel alacsonyabb, mint a vegyület humán sejteken, illetve sejtvonalakon mért IC₅₀ értéke. A legígéretesebb DUT69 molekula MIC értéke (1 µg/ml, $3,73 \times 10^{-6}$ M) 4 nagyságrenddel alacsonyabb, mint a MonoMac6 sejtvonalon mért IC₅₀ érték ($1,21 \times 10^{-2}$ M). A PriA42 molekula esetében ez a különbség 2 nagyságrend volt.
4. Meghatároztam a DUT44 molekula gerjesztési és emissziós spektrumát a BD LSR II áramlási citométer mérési paramétereinek megfelelő beállításához. Megállapítottam, hogy a vegyület koncentrációfüggő sejt felvételt mutat MonoMac6 sejtvonalon.
5. A DUT69 molekula származékát oxim-kötésen keresztül oligotuftsin (OT10) peptidhez konjugáltam. Az alapvegyület MIC értéke 1µg/ml volt, míg a konjugátumé 6,9µg/ml. Az oxim-kötésen keresztüli konjugálás tehát nem befolyásolta a vegyület antituberkulotikus hatását.
6. A DUT44 vegyület hidroxilcsoportját glutáraldehiddel reagáltattam és szilárd fázison kapcsoltam a hordozó peptid N-terminálisához. A glutáraldehiddel képzett származék MIC értéke 42,5µg/ml volt, ami közel van a DUT44 MIC értékéhez (20µg/ml). A hatóanyag hidroxilcsoportjának észterezésével nem módosította jelentős mértékben a vegyület antituberkulotikus hatását.

A tézisek alapjául szolgáló közlemények:

- [1]. Global tuberculosis control: Surveillance, planning, financing. World Health Organization, 2008 (WHO/HTM/TB/2008.393).
- [2]. Bősze, S., Caccamo, N., Majer, Z., Mező, G., Dieli, F., Hudecz, F.: *In vitro* T-cell immunogenicity of oligopeptides derived from the region 92-110 of the 16-kDa protein of *Mycobacterium tuberculosis*. *Biopolymers*, 2004. 76(6): p. 467-76.
- [3]. Majumdar, S., Basu, S. K.: Receptor-mediated delivery of *p*-aminosalicylic acid to maleylated serum albumin against *Mycobacterium tuberculosis* infection in guinea pigs. *Drug Delivery*, 1995. 2: p. 144-149.
- [4]. Majumdar, S., Basu, S. K.: Killing of intracellular *Mycobacterium tuberculosis* by receptor-mediated drug delivery. *Antimicrob Agents Chemother*, 1991. 35(1): p. 135-40.

A tézisek alapjául szolgáló saját közlemények:

- [5]. **Horváti, K.**, Bősze, S., Mező, G., Caccamo, N., Dieli, F., Hudecz, F.: Synthesis and *in vitro* effect of peptides and peptide-conjugates from 16 kDa protein of *Mycobacterium tuberculosis* on IFN- γ production. *J. Peptide Sci.* 2006. 12S p. 230.
- [6]. **Horváti, K.**, Bősze, S., Hudecz, F., Medzihradszky-Schweiger, H.: A simple method for monitoring the cysteine content in synthetic peptides. *J Peptide Sci*, 2008. 14(7): p. 838-844.
- [7]. **Horváti, K.**, Mező, G., Szabó, N., Hudecz, F., Bősze, Sz.: Peptide conjugates of therapeutically used antitubercular isoniazid - design, synthesis and antimycobacterial effect. *J. Peptide Sci.* 2009. nyomtatás alatt
- [8]. **Horváti, K.**, Bősze, S., Szabó, N., Kiss, É., Hill, K., Mező, G., Hudecz, F.: Peptide conjugates of antituberculous drugs. *Peptide Science*, 2006. p. 271-272.
- [9]. **Horváti, K.**, Mező, G., Szabó, N., Grolmusz, V., Hudecz, F., Bősze, Sz.: Peptide conjugates of new *in silico* identified drug candidates and first/second line antituberculars - design, synthesis and antimycobacterial effect. *J. Peptide Sci.* 2008. 14S p.161.

A témában bemutatott poszterek, előadások:

Horváti, K., Mező, G., Szabó, N., Hudecz, F., Bősze, Sz.: Isoniazid and *p*-aminosalicylic acid - peptide conjugates: synthesis and antimycobacterial evaluation. 9th International Symposium on Solid Phase Synthesis, Norwich, England, 2007 (előadás) *1. díj a Young Investigator Mini Symposium-on.*

Horváti, K., Bősze, Sz., Egerszegi, S., Mező, G., Caccamo N., Dieli, F., Hudecz, F.: *In vitro* effect of CD4+ and CD8+ epitope peptides and derivatives corresponding to the of 16kDa protein of *Mycobacterium tuberculosis* on PBMC. Alexander von Humbolt Workshop, Mátraháza, 2007 (poszter).

Hill, K., Bősze, Sz., **Horváti, K.,** Hudecz, F., Péntes, Cs., Szabó, G., Kiss, É.: Interaction of membrane lipid and antibacterial peptide conjugates in Langmuir layers. ESF-EMBO Symposium „Biological Surfaces and Interfaces”, Sant Feliu de Guixols, Spanyolország, 2007 (poszter).

Hill, K., Bősze, Sz., **Horváti, K.,** Hudecz, F. Kiss, É.: Molecular Interaction between lung surfactant and antibacterial peptide conjugates related to enhanced drug transport. 6th Annual Surface and Colloid Symposium, Lipid-Peptide Interactions and Biological Function, Lund, Norvégia, 2006 (poszter).

Horváti, K., Bősze, Sz., Medzihradsky-Schweiger, H.: A selective and simple determination of cysteine content in different peptides and peptide derivatives. 1st European Chemistry Congress, Budapest, 2006 (poszter).

Egyéb közlemények:

Balogh, Á., **Horváti, K.,** Mező, G., Derzbach, L., Szebeni, B., Nagy, L., Prechl, J., Vászárhelyi, B., Hudecz, F., Bősze, Sz.: Synthesis of hepcidin derivatives in order to develop standards for immune adsorption method. *J. Peptide Sci.* [IF: 1,801] DOI 10.1002/psc.1113.

Bacsa, B., **Horváti, K.,** Bősze, Sz, Andrae, F., Kappe, C. O.: Solid-phase synthesis of difficult peptide sequences at elevated temperatures: a critical comparison of microwave and conventional heating technologies. *J. Org. Chem.* 73(19):7532-42 (2008).

Manea, M., Kalászi, A., Mező, G., **Horváti, K.,** Bodor, A., Horváth, A., Farkas, Ö., Perczel, A., Przybylski, M., Hudecz, F.: Antibody Recognition and Conformational Flexibility of a Plaque-Specific beta-Amyloid Epitope Modulated by Non-native Peptide Flanking Regions. *J. Med. Chem.* 51(5):1150-61 (2008).